*APPY*1™ Test Kit - Français

IVD

Utilisation prévue

Le test *APPY*1 est un dosage qualitatif à indice multivariable pour diagnostic in vitro (IVDMIA) utilisé pour faciliter l'identification des patients dont les risques d'appendicite aiguë sont faibles. Le test *APPY*1 mesure les concentrations d'hétérocomplexe de protéine myéloïde MRP 8/14 (calprotectine) et de protéine C réactive (CRP) dans le plasma-EDTA par immunodosage à flux latéral. Les concentrations quantitatives de MRP 8/14 et CRP, en plus du décompte de globules blancs (WBC) réalisé indépendamment, sont ensuite calculées à l'aide d'un algorithme propre préprogrammé pour donner un résultat de test *APPY*1.

Mode d'emploi

Le test *APPY*1 est indiqué pour un usage chez des patients pédiatriques, adolescents et jeunes adultes de 2 à 20 ans, souffrant de douleurs abdominales et d'autres signes et symptômes physiques et cliniques d'appendicite aiguë.

À usage professionnel exclusif

Résumé et explication

Le diagnostic de patients présentant des douleurs abdominales reste l'une de préoccupations les plus courantes et complexes en médecine d'urgence. Plus de 22,2 millions de patients se sont rendus dans les services d'urgence en Europe et aux États-Unis en 2010 en se plaignant principalement de douleurs abdominales.[1,2]

L'incidence d'une appendicite est la plus importante chez les patients pédiatriques, adolescents et jeunes adultes de 10 à 19 ans,[3] mais pour ces patients, le diagnostic est un réel défi, car les enfants présentent une vaste palette de caractéristiques cliniques atypiques.[4] Jusqu'à 50% des nouveau-nés et des jeunes enfants souffrant d'AA peuvent présenter des signes et des symptômes atypiques,[5] susceptibles de retarder le diagnostic et d'entraîner des complications mortelles comme une perforation d'appendice, un abcès abdominal, une péritonite, une sepsie et un choc. De ce fait, il est important d'identifier des outils diagnostiques qui facilitent les diagnostics et la stratification du risque, de manière objective, opportune et précise chez les patients suspectés d'appendicite aiguë (AA).

À ce jour, la capacité à diagnostiquer l'appendicite de manière précise est limitée à un ensemble de signes et de symptômes physiques et cliniques ainsi qu'à diverses modalités de diagnostic. De nombreux outils de prédiction clinique utilisant les symptômes classiques comme points de données ont été mis au point pour faciliter le diagnostic de l'appendicite. La performance de ces systèmes de notation est inconstante et très variable.[5,6] De plus, ces systèmes ne sont pas fréquemment utilisés par les services d'urgence.[7] Le décompte de globules blancs est effectué de manière régulière, mais il a montré une utilité limitée en tant que marqueur simple, même lorsqu'il est combiné à des signes et symptômes suggérant l'AA.[8] En fonction de l'évaluation initiale des risques du patient par le professionnel de santé, l'imagerie de diagnostic, dont échographie abdominale (US) ou la tomographie assistée par ordinateur (CT) avec ou sans contraste, peut être demandée dans des cas où la présentation est équivoque et plus d'informations sont nécessaires. Alors que la CT est précise dans le diagnostic d'une appendicite aiguë lorsque l'appendice est clairement visualisé, les risques d'exposition accrue aux rayons ionisants sont importants, ce qui renforce l'utilisation de tests moins nocifs.[9-12] Des rapports récents ont montré que l'utilisation de la CT chez les populations pédiatriques a atteint un palier; cependant la préoccupation relative à l'exposition à la CT, surtout chez les jeunes patients, n'a pas diminuée.[12,13]

L'association de trois marqueurs biologiques dans le test *APPY*1, au lieu d'un seul, améliore la capacité de détection des patients à faible risque.[7] Le test *APPY*1, utilisé avec les résultats physiques et cliniques, fournit des informations additionnelles objectives afin d'aider lors de la prise de décisions cliniques, lors de la stratification du risque chez les patients présentant des douleurs abdominales suggérant une appendicite aiguë. Les patients identifiés comme présentant des risques réduits selon le test *APPY*1 pourront être gérés de manière plus raisonnable, p. ex. avec des tests ou des contrôles par imagerie minimaux voire nuls, en se basant sur l'observation uniquement, et une libération anticipée.

Principes du test

Le système *APPY*1 se compose de l'instrument *APPY*Reader™ (le lecteur), d'une cassette de test *APPY*1 à usage unique, d'un flacon de tampon de dilution à usage unique et d'un flacon d'anticorps lyophilisés conjugués à des microparticules à marquage fluorescent. La procédure de test prévoit l'ajout du plasma du patient au tampon de dilution, suivi par la reconstitution du conjugué lyophilisé à l'aide du plasma/tampon dilué. Les complexes MRP 8/14 et CRP disponibles dans l'échantillon du patient dilué sont liés par le conjugué d'anticorps reconstitué. Une aliquote de ce mélange est ensuite appliquée dans la cassette de test où les complexes MRP 8/14 et CRP,

désormais à marquage fluorescent, se lient aux anticorps de la zone de capture correspondante sur la membrane en nitrocellulose. La cassette de test est immédiatement insérée dans le lecteur qui mesure la concentration de chaque échantillon d'analyse présent dans l'échantillon en se basant sur l'intensité de fluorescence de chaque zone de capture de la ligne de test.La concentration en MRP 8/14 et CRP présente dans l'échantillon est calculée en se basant sur les courbes d'étalonnage préprogrammées sur des étiquettes RFID apposées sur chaque cassette de test. Les concentrations des deux marqueurs, en combinaison avec les valeurs de décompte de globules blancs obtenues d'un analyseur d'hématologie hospitalier et saisies dans le lecteur dédié, sont utilisées pour calculer le résultat du Test *APPY*1 du patient à l'aide d'un algorithme propre préprogrammé. Le système *APPY*1 réalise également des contrôles qualité électroniques (secs) et procéduriers (liquides) afin de garantir l'intégrité des résultats. Le temps total nécessaire pour le traitement et le test est d'environ 20 minutes.

La MRP 8/14 (également appelée S100A8/A9 ou calprotectine) est un complexe protéinique liant le calcium, présent dans le cytoplasme des neutrophiles associé à des états inflammatoires aigus non-spécifiques. La MRP 8/14 se trouve à des taux différemment élevés dans les tissus de l'appendice et le sang périphérique chez les patients atteints d'appendicite aiguë.[15-18]

La protéine C réactive (CRP) est produite par le foie et elle est associée à une inflammation. La CRP est une protéine de phase aiguë dont la concentration est élevée dans différentes maladies et différents états associés à une inflammation aiguë non-spécifique. Des concentrations élevées de CRP dans le sang périphérique ont été liées à une appendicite aiguë.[19-21] Les caractéristiques de performance analytiques du dosage en CRP du test *APPY*1 sont cohérentes avec le dosage CRP haute sensibilité (hsCRP) décrit ci-dessous.

Les décomptes élevés de globules blancs totaux sont associés à l'appendicite aiguë lorsque les symptômes sont présents depuis 24 heures ou plus.[22] La leucocytose n'est pas spécifique à l'appendicite aiguë, car elle apparaît également dans différentes autres infections et troubles inflammatoires. Les études suggèrent qu'un décompte normal en globules blancs en conjonction avec des niveaux bas de MRP 8/14 et CRP et d'autres marqueurs biologiques, réduisent les probabilités de présence d'une appendicite aiguë.[18]

Réactifs et matériels

*APPY*1 Test Kit, 25 tests REF F10000

- *APPY*1 Test Cassette, dans pochette, x 25
  - » Membrane en nitrocellulose à bandes d'anticorps monoclonaux spécifiques pour la CRP et la MRP 8/14 et un anticorps polyclonal de chèvre anti-poulet IgY non lié comme témoin interne.
- Tampon test *APPY*1, 990 µl, x 25
- Conjugué de test *APPY*1, gâteau lyophilisé, x 25
- Mode d'emploi x 1

Éléments requis mais non fournis

- *APPY*Reader Kit REF F10008
- *APPY*Reader QC Cassette, dans pochette, x 1 REF F10004
- *APPY*1 Control Kit, 10 flacons REF F10005
  - » *APPY*1 Témoin niveau 1, 40 µl, x 5
  - » *APPY*1 Témoin niveau 2, 40 µl, x 5
- Centrifugeuse pour traitement du plasma, rotor à angle fixe ≥ 45 degrés ou rotor à godet oscillant capable d'atteindre 1 300 x g ± 100 (Force centrifuge relative, FCR)
- Micropipettes calibrées et embouts de micropipettes jetables capables de distribuer 10 µl, 70 µl et 150 µl
- Agitateur-mélangeur vortex
- Mini-centrifugeuse (pour des rotations par impulsion des témoins, le cas échéant)
- Équipement de protection individuel et conteneurs d'élimination des déchets biologiques dangereux

Entreposage et stabilité

- Dès réception, le *APPY*1 Test Kit sera entreposé à 2º-8º C (35,6º-46,4º F) à l'abri de la lumière. Les éléments du kit devraient être stockés dans leur emballage d'origine, fermé, jusqu'à ce qu'ils soient prêts à l'emploi. Le *APPY*1 Test Kit est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur la boîte du kit et les composants de test, dans les conditions d'entreposage recommandées.

- La QC Cassette de contrôle qualité *APPY*Reader devrait être entreposée à 15°-30° C (59°-86° F) dans son emballage d'origine, fermé, jusqu'à ce qu'elle soit prête à l'emploi. La cassette QC est réutilisable et elle doit être refermée dans sa pochette d'origine immédiatement après chaque utilisation. **Ne pas jeter. Conserver à l'abri de la lumière.**

- **Le *APPY*1 Control Kit doit être entreposé dans son emballage d'origine à ≤ -20°C (-4°F). Ne pas entreposer dans un congélateur sans givre. Seule la quantité requise de flacons de témoin sera décongelée immédiatement avant utilisation, puis éliminée après le test. Ne pas recongeler les flacons *APPY*1 Témoin 1 et Témoin 2 après décongélation.**

Précautions

Précautions générales

- À usage professionnel exclusif.
- Chaque cassette de test est prévue pour un usage unique avec un échantillon de patient. Ne pas réutiliser les cassettes de test.
- **Ne pas mélanger les composants de différents lots de kit de test, car les composants sont appariés pour chaque lot de kit de test pour une performance optimale.**
- Ne pas sortir les cassettes de test de leur pochette tant qu'elles ne sont pas prêtes à l'emploi. Ne pas retirer le conjugué de test de l'emballage du kit tant qu'il n'est pas prêt à l'emploi.
- Entreposer la *APPY*Reader QC Cassette dans sa pochette d'origine réutilisable et opaque entre chaque utilisation. Après chaque utilisation, replacer la QC cassette dans la pochette originale réutilisable. Ne pas jeter.
- Ne pas utiliser des flacons *APPY*1 Control qui ont été décongelés et recongelés.
- Ne pas percer ni abîmer la cassette de test pendant toute manipulation avant son utilisation. Si elle est percée ou endommagée, l'éliminer et utiliser une nouvelle cassette de test.
- Ne pas utiliser les composants du kit au-delà de la date d'expiration imprimée sur la boîte du kit et les étiquettes des composants.
- Après le chargement de l'échantillon de test dans le port d'échantillon de la cassette de test, refermer immédiatement le tiroir à cassette pour lancer le test. Tout retard pourrait entraîner un résultat de test invalide.
- Une valeur confirmée de décompte de globules blancs du patient doit être saisie dans les 90 minutes après le début du test afin d'obtenir un résultat valide.
- Tous les matériels en contact avec le sang humain ou ses dérivés seront éliminés comme déchets biologiques dangereux.
- Le *APPY*1 Control Kit contient des dérivés de plasma humain combiné. Chaque unité de donneur individuel a été testée et elle s'est révélée négative pour HBsAg, HCV, HIV-1, HIV-2, HIV-1Ag, HIV-1-NAT, ALT et la syphilis selon des méthodes approuvées par la FDA. Comme aucune méthode de test ne peut pleinement garantir l'absence totale d'agent infectieux, ces réactifs seront manipulés comme du plasma humain potentiellement infectieux. Il est recommandé d'appliquer les précautions universelles et les règles de sécurité en matière de pathogènes sanguins. Chaque laboratoire devra suivre ses propres directives institutionnelles de pratiques de sécurité en laboratoire.

- Le tampon test contient 0,095% d'azoture de sodium comme conservateur. En cas de contact avec la peau, rincer abondamment à l'eau. L'azoture de sodium peut réagir avec des canalisations en plomb et/ou cuivre, pour former des azotures métalliques explosifs ; rincer abondamment à l'eau lors de l'élimination.

- Tous les échantillons des patients seront manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une maladie. Il est recommandé d'appliquer les précautions universelles et les règles de sécurité en matière de pathogènes sanguins. Chaque laboratoire devra suivre ses propres directives institutionnelles de pratiques de sécurité en laboratoire.

Collecte et entreposage des échantillons

Le sang du patient sera prélevé par ponction veineuse de routine ou une ligne IV posée (avec purge) dans un tube K2-EDTA (bouchon lavande) contenant 1,8 mg d'EDTA/cc de sang. Après le prélèvement sanguin, centrifuger le tube pendant 10 minutes à 1 300 x g ± 100 (FCR) à température ambiante. **La centrifugation doit commencer au maximum une (1) heure après la collecte de l'échantillon.** La centrifugeuse doit disposer d'un rotor à angle fixe supérieur à 45 degrés ou d'un rotor à godet oscillant. Pour calculer la conversion des RPM en FCR, se reporter au manuel d'utilisation de la centrifugeuse ou contacter l'Assistance technique de Venaxis.

Procédure de test

Configuration du Lecteur

- Suivre la configuration du lecteur décrite dans le manuel de l'utilisateur et/ou le guide de démarrage du *APPY*Reader.
- Se connecter au lecteur à l'aide de l'ID opérateur assignée.
- Laisser chauffer le lecteur pendant 10 minutes avant de lancer les échantillons de patient.

Préparer les réactifs du CQ et du test

- En cas de contrôle qualité (CQ) liquide, retirer la quantité requise de flacons de Témoin 1 et Témoin 2 du *APPY*1 Control Kit entreposé ≤ -20° C. Décongeler les flacons à température ambiante pendant que le lecteur chauffe. Se reporter au mode d'emploi du *APPY*1 Control Kit pour de plus amples informations.
- Retirer une quantité suffisante de cassettes de test, de flacons de tampon test et de flacons de conjugué de test d'un *APPY*1 Test Kit stocké à 2 - 8° C nécessaires pour réaliser tous les tests (CQ et échantillons de patient). Laisser les composants atteindre la température ambiante pendant que le lecteur chauffe.

Lancer la QC Cassette

- À réaliser tous les jours avant une campagne de tests de patients et/ou avant d'effectuer les contrôles à l'aide des témoins 1 et 2. Il n'est pas possible de tester les échantillons d'un patient si la QC cassette n'a pas donné de résultat valide (PASS, CONFORME) dans les premières 24 heures.
- **IMPORTANT : Afin de préserver la durée de vie utile prévue de la QC cassette, éviter toute exposition à la lumière. Entreposer et replacer la QC cassette dans sa pochette originale en aluminium immédiatement après chaque utilisation. Ne pas éliminer avant la date d'expiration.**
- Voir le mode d'emploi de la *APPY*Reader QC Cassette pour de plus amples informations.

1. Ouvrir une session en tant qu'opérateur ou passer en mode opérateur.
2. Appuyer sur pour afficher l'écran **Main Menu** (Menu principal)
3. Utiliser et pour sélectionner **Maintenance** (Entretien) et appuyer sur **Select** (Sélectionner).
4. Utiliser et pour surligner **Check** (Contrôler) ***APPY*Reader** et appuyer sur **Select** (Sélectionner).
5. Utiliser et pour surligner ***APPY*Reader QC Cassette** et appuyer sur **Select** (Sélectionner).
   Le tiroir du lecteur s'ouvrira et l'écran **Insert Cassette** (Insérer cassette) apparaîtra.
   L'écran de la ***APPY*Reader QC Cassette** apparaît dès la fin du test.
6. Pour imprimer le résultat de la QC cassette :
   a. Appuyer sur **Options**.
   b. Utiliser et pour surligner **Print Result** (Imprimer résultats) et appuyer sur Select (Sélectionner).
7. Afin d'envoyer le résultat au Système informatique du laboratoire, se reporter au Manuel de l'utilisateur du *APPY*Reader.
8. Appuyer sur **Back** (Retour) pour revenir à l'écran **Check** (Contrôler) ***APPY*Reader** ou appuyer sur pour revenir à l'écran du **Main Menu** (Menu principal).

- Valeurs prévues
  a. Si les valeurs de l'unité de fluorescence relative (RFU) détectées par la QC cassette sont dans les plages acceptables programmées sur la puce RFID de la QC cassette, le résultat du test est PASS (CONFORME).
  b. Les valeurs RFU détectées par la QC cassette sont en dehors des plages acceptables programmées sur la puce RFID de la QC cassette, le résultat du test est FAIL (NON CONFORME) et l'opérateur n'est pas autorisé à tester les échantillons du patient. Recommencer le test avec une autre QC cassette.
  c. Si le résultat de la seconde QC cassette est PASS (CONFORME), poursuivre les tests sur les échantillons du patient.
  d. Si aucune autre QC cassette n'est disponible, ou si le résultat de la seconde QC cassette est FAIL (NON CONFORME), le lecteur reste verrouillé. Contacter l'assistance technique de Venaxis au +1-303-794-2000 ou votre distributeur local pour une assistance.

Tester les échantillons de patient

- Préparer la *APPY*1 Test Cassette
  1. Se connecter comme opérateur ou passer au mode opérateur.
  2. Appuyer sur pour afficher l'écran **Main Menu** (Menu principal) de l'opérateur.
  3. Utiliser et pour surligner **Run Test** (Lancer test) et appuyer sur **Select** (Sélectionner).
  4. Saisir l'ID du patient selon l'une des méthodes suivantes :
     - *Manuellement,* utiliser le clavier numérique pour saisir l'ID du patient.
       a. Appuyer sur le **Keypad** (Clavier) pour saisir les lettres, les espaces et la ponctuation.
       b. Lorsque le clavier apparaît à l'écran du lecteur, utiliser , , , et pour surligner le caractère désiré.
       c. Appuyer sur **Confirm & Next** (Confirmer et Suivant) pour ajouter le caractère surligné à l'ID du patient.
       d. Recommencer les étapes a, b et c autant de fois que nécessaire.
       e. Lorsque l'ID du patient est indiquée, appuyer sur **Back** (Retour) ou sélectionner **Done** (Terminé) pour quitter la fonction Clavier.
     - À l'ai*de du lecteur de* code barres externe, balayer le code barres du patient.
  5. À l'écran Enter Patient ID (Saisir l'ID du patient), appuyer sur **Confirm** (Confirmer).
  6. Si le résultat du décompte de globules blancs du patient est disponible, le saisir et appuyer sur **Confirm** (Confirmer). Sinon appuyer sur **Skip** (Passer). Si vous appuyez sur **Skip** (Passer), vous serez invité à saisir le décompte de globules blancs après le test.
  7. Si le tiroir ne s'ouvre pas, appuyer sur pour éjecter le tiroir.
  8. Retirer la cassette de test de la pochette et la placer dans le tiroir.
- Préparer l'échantillon de plasma du patient pour le test
  1. Préparer le tampon test et les flacons de test de conjugué.
  2. Utiliser un nouvel embout de pipette jetable pour chaque transfert.
  3. Prélever 10 µl d'échantillon de plasma du patient du tube K2-EDTA centrifugé, en veillant à ne pas toucher la couche leuco-plaquettaire. Transférer dans le flacon de tampon test. Refermer et bien mélanger au vortex ou manuellement.
  4. Transférer 150 µl de l'échantillon de plasma du patient dilué dans le flacon de test de conjugué. Bien mélanger en pipetant de haut en bas 8 à 10 fois, en sorte que tous conjugué est remis en suspension. Ne pas introduire d'air dans le mélange afin d'éviter toute création de mousse.
- Lancer un contrôle
  1. Ajouter immédiatement 70 µl de mélange d'échantillon de patient dilué/conjugué d'anticorps dans le port d'échantillon de la cassette de test.
  2. Refermer doucement le tiroir. Le test démarre automatiquement.
  3. Le lecteur affiche l'état du test à l'écran **Run Test** (Lancer test).
  4. Une fois que le test est terminé, vous serez invité à saisir le décompte de globules blancs ou à confirmer le décompte saisi avant le test. La cassette de test doit rester dans le lecteur pendant ce temps.
  5. Saisir à nouveau le décompte de globules blancs et appuyer sur **Confirm** (Confirmer). L'écran **Test Result** (Résultat du test) apparaît.
  6. **Appuyer sur Next (Suivant) pour afficher l'écran Confirm Patient ID (Confirmer l'ID du patient).**
  7. **Confirmer que l'ID du patient affichée à l'écran est correcte.**
- Afficher et imprimer les résultats
  1. Si l'ID du patient est correcte : appuyer sur **Confirm** (Confirmer) pour afficher les résultats du test à l'écran **Result List** (Liste des résultats). Si la fonction de lecture automatique du lecteur est activée, le résultat est automatiquement imprimé.
  2. Si l'ID du patient est incorrecte :
     - Saisir l'ID appropriée du patient et appuyer sur **Confirm** (Confirmer) pour afficher l'écran ID du patient ne correspond pas.
     - Saisir à nouveau l'ID du patient et appuyer sur **Confirm** (Confirmer) pour afficher les résultats du test à l'écran **Result List** (Liste des résultats).
  3. Si la fonction de lecture automatique du lecteur est activée, le résultat est automatiquement imprimé.
  4. Appuyer sur pour é jecter le tiroir. Retirer la cassette de test et l'éliminer dans un conteneur pour déchets biologiques dangereux.

Interprétation des résultats

RÉSULTAT DE TEST *APPY*1	INTERPRÉTATION
NÉGATIF/Faible risque d'appendicite	NÉGATIF/Faible risque d'appendicite En dessous du point de décision clinique pour le test. Le patient présente un faible risque d'appendicite aiguë.
NON CONCLUANT pour l'appendicite	Au-dessus du point de décision clinique pour le test. Risque non concluant pour l'appendicite aiguë. Voir limites ci-dessous.
RÉSULTAT INVALIDE OU MESSAGE D'ERREUR	Recommencer le test. Si le nouveau test entraîne toujours un résultat invalide ou un message d'erreur, consulter les instructions de dépannage du manuel d'utilisation du *APPY*Reader ou contacter l'assistance technique.

Contrôle de la qualité

Fonctions de contrôle intégré

- Le logiciel du lecteur comprend une vérification automatique à l'initialisation qui étalonne les moteurs optiques, contrôle le système de transport de la cassette, vérifie le système optique de réception et réalise un test d'intégrité des paramètres du lecteur. Le non respect des spécifications préprogrammées entraînera un résultat invalide ou un message d'erreur.

Contrôles externes

- ***APPY*Reader QC Cassette**

  La *APPY*Reader QC Cassette fournit un contrôle d'adaptabilité optique et système afin de déterminer le bon fonctionnement du lecteur, elle sera utilisée tous les jours avant de lancer les réactifs liquides de CQ ou les échantillons de patients. Les résultats de la QC cassette doivent être conformes afin de réaliser les tests sur les échantillons des patients.

- ***APPY*1 Control Kit**

  Les contrôles de qualité liquides sont disponibles en tant que témoins de procédure pour le test *APPY*1. Les plages établies pour chaque témoin sont fournies avec chaque lot de kit. Suivre le mode d'emploi fourni avec chaque kit afin de réaliser les contrôles nécessaires. Les témoins devraient être testés :
  - » Au moins une fois par mois
  - » Avec chaque nouveau lot et envoi de *APPY*1 Test Kits
  - » En cas de doute concernant l'intégrité du système, les conditions de stockage de réactif ou la fiabilité d'un résultat de test
  - » Conformément aux directives nationales ou locales
  - » Conformément aux procédures de CQ de votre laboratoire

Limites

1. Un résultat de Test *APPY*1 **Négatif/Faible risque d'appendicite** n'empêche pas de diagnostiquer une appendicite aiguë. Au cours des premières étapes de réaction à une phase aiguë (<24 heures après le déclenchement des symptômes) ou pour l'appendicite aiguë focalisée, il est possible que les niveaux plasmatiques de MRP 8/14 et CRP n'aient pas atteint les niveaux cliniquement importants, ce qui entraîne un résultat de test faux négatif.
2. Un test *APPY*1 **non concluant pour l'appendicite** ne devrait pas être utilisé comme diagnostic d'appendicite aiguë, ni interprété comme étant « positif », car d'autres troubles ou maladies infectieuses peuvent entraîner une augmentation des niveaux plasmatiques de MRP 8/14 et CRP ainsi qu'un taux élevé de globules blancs.
3. Le résultat du test *APPY*1 se fonde sur un score calculé à l'aide d'un algorithme propre utilisant des entrées multivariables. Ensuite, le score est comparé à un point de décision clinique prédéterminé pour arriver au résultat du test *APPY*1.

4. La MRP 8/14, la CRP et le décompte des globules blancs sont régulés à la hausse de manière non spécifique dans des états inflammatoires comme des infections aiguës, des blessures tissulaires graves et d'autres troubles inflammatoires. De ce fait, il conviendra de prononcer un diagnostic d'appendicite aiguë dans le contexte de l'historique du patient ainsi que des constats physiques et cliniques.
5. Les variations des niveaux de CRP entre individus peuvent aller de 30 à 60 %. La variabilité des niveaux de MRP 8/14 est également bien caractérisée.
6. Des erreurs de traitement des échantillons peuvent entraîner des résultats faux positifs ou faux négatifs.

Résultats attendus

L'algorithme et la valeur du point/limite clinique de décision sont obtenus d'une étude clinique pilote sur 503 patients. En se basant sur l'analyse de la Courbe caractéristique de la performance d'un test (ROC) et l'accord clinique avec diagnostic de décharge, le point de décision clinique pour le test *APPY*1 Test a été défini. Pour un patient, les résultats du test inférieurs à cette limite sont considérés comme NÉGATIFS ou à faible risque pour l'appendicite aiguë et les résultats supérieurs à cette limite sont considérés comme étant un risque NON CONCLUANT en termes d'appendicite aiguë.

Performance clinique

L'étude de validation clinique du *APPY*1 System a été réalisée sur des échantillons archivés de plasma congelé. Les échantillons ont été collectés dans le cadre d'une précédente étude d'observation multisite, prospective, ouverte d'évaluation, vérification, triage et disposition de patients de 2 à 20 ans admis dans des services d'urgence avec des symptômes suggérant une appendicite aiguë. Les patients admis dans cette étude ont fait l'objet de prélèvements sanguins traités en plasma, puis congelés dans un délai de 2 heures. Les échantillons ont été stockés sur site à ≤ -70ºC jusqu'à leur expédition à Venaxis, où ils ont été archivés et stockés à ≤ -70ºC jusqu'au test. Un test d'échantillon en aveugle a été réalisé dans le laboratoire de Venaxis à l'aide du *APPY* System. Les résultats de test du système *APPY*1 ont été comparés au diagnostic de décharge original (négatif pour l'appendicite aiguë, AA-) ou histopathologie (positive pour l'appendicite aiguë, AA+).

Un total de 465 échantillons de patient collectés au cours de précédentes études cliniques pilotes, d'un volume suffisant pour l'analyse complète, ont été utilisés au cours de l'étude de validation. Les sujets étaient âgés de 2 à 20 ans, avec une moyenne d'âge de 12,0 ± 4,3 ans. Environ 49% étaient de sexe masculin, 52% de sexe féminin. La race prédominante était caucasienne pour 70%, Hispanique/Latino pour 19% et autre 11%. Il n'y a pas eu de différence importante d'âge moyen entre le groupe AA+ (12,5±3,8), et le groupe AA- (11,9±4,5).

Résultats du test *APPY*1 comparé au diagnostic clinique

Résultat de test *APPY*1 N=465	**AA-**	**AA+**	
En dessous de la limite : Faible risque d'AA	154	6	160
Au-dessus de la limite : Non concluant pour l'AA	179	126	305
	333	132	465

Données de performance clinique

Mesure	Estimation (95% CI)
Prévalence AA	28,4% (24,5 – 32,6)
Sensibilité	95,5% (90,4 – 97,9)
Spécificité	46,2% (41,0 – 51,6)
VPN	96,3% (92,1 – 98,3)
VPP	41,3% (35,9 – 46,9)
Rapport de probabilité positive	1,78 (1,60 – 1,99)
Rapport de possibilité négative	0,098 (0,045 – 0,217)

Performance analytique

Limite de détection

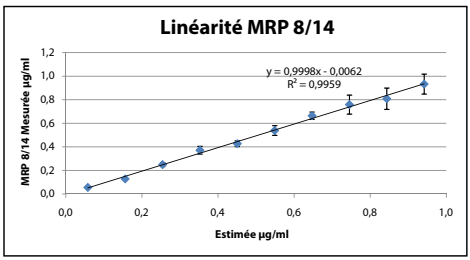
La limite du blanc (LOB), la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) ont été déterminées par 2 opérateurs testant 3 lots de *APPY*1Test Kits en fonction de 6 échantillons de plasma et échantillons blancs de tampon test sur 3 jours, avec les échantillons randomisés quotidiennement.

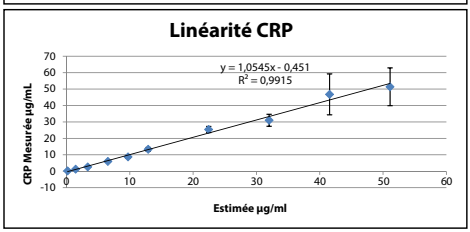
LOD, LOB et LOQ

Limite	CRP, µg/ml	MRP, µg/ml
Blanc	0,201	0,030
Détection	0,254	0,045
Quantification	0,341	0,064

Linéarité

Pour chaque échantillon à analyser, la linéarité a été démontrée pour un intervalle couvrant environ la LOD/LOQ jusqu'à la valeur de troncature supérieure du dosage. Le dosage est linéaire pour les deux substances à analyser dans la plage de la valeur clinique limite. Le dosage de MRP est linéaire de 0,052 à 0,933 µg/ml ; le dosage de CRP est linéaire de 0,187 à 51,4 µg/ml. À l'aide de la LOD CRP comme valeur inférieure, le dosage CRP est linéaire de 0,254 µg/ml à 51,4 µg/ml.





Précision

La performance de précision du Test *APPY*1 a été évaluée conformément à la directive CLSI EP-5A2, « Évaluation de performance de précision des méthodes de mesure quantitative ; Directive approuvée ». Cinq échantillons de plasma entre la LOQ et la limite (Score de Test *APPY*1 de 4,0), ou à proximité de la limite et à des intervalles au-delà de la limite ont été testés pendant plus de 20 jours, 2 passages par jour, 2 répétitions par passage, 1 opérateur. Les échantillons ont été randomisés sur 5 lecteurs au cours de chaque journée de test. Afin de calculer le score du test *APPY*1, un décompte fixe de globules blancs a été assigné à chaque échantillon. Le pourcentage du coefficient total de variation (% CV) s'échelonnait de 0,0 à 2,8% pour le score du test *APPY*1, 6,5 à 12,0% pour la MRP 8/14 et 4,8 à 15,1% pour la CRP. À proximité du point limite, les % CV de MRP 8/14 et CRP étaient ≤ 10,6%.

Précision du test : Score du test *APPY*1 avec décompte fixe de globules blancs

Échantillon	N	*Score du test APPY1 (Moyenne)*	Au cours d'un passage		Entre les passages		Total	
			Écart type	CV %	Écart type	CV %	Écart type	CV %
1	80	3,2	0,000	0,0	0,000	0,0	0,000	0,0
2	80	3,9	0,000	0,0	0,000	0,0	0,000	0,0
3	80	4,0	0,050	1,2	0,000	0,0	0,050	1,2
4	80	4,1	0,037	0,9	0,027	0,7	0,046	1,1
5	80	5,2	0,143	2,8	0,000	0,0	0,148	2,8

Précision du test : Concentration de MRP 8/14

Paramètres		Échantillon				
		1	2	3	4	5
MRP 8/14 µg/mL						
Moyenne		0,10	0,15	0,24	0,31	0,52
Répétabilité (au cours d'un passage)	Écart type	0,006	0,009	0,024	0,016	0,058
	CV %	6,3	6,1	10,0	5,1	11,2
Entre les passages	Écart type	0,000	0,007	0,002	0,012	0,000
	CV %	0,0	4,5	0,7	3,8	0,0
Total	Écart type	0,006	0,011	0,025	0,021	0,062
	CV %	6,5	7,1	10,6	6,9	12,0

Précision du test : Concentration de CRP

Paramètres		Échantillon				
		1	2	3	4	5
CRP µg/mL						
Moyenne		0,58	2,31	5,06	5,25	18,88
Répétabilité (au cours d'un passage)	Écart type	0,027	0,126	0,341	0,364	2,953
	CV %	4,6	5,5	6,7	6,9	15,6
Entre les passages	Écart type	0,013	0,097	0,280	0,262	0,000
	CV %	2,3	4,2	5,5	5,0	0,0
Total	Écart type	0,028	0,149	0,453	0,453	2,851
	CV %	4,8	6,5	8,6	8,6	15,1

Reproductibilité

La reproductibilité a été évaluée dans le laboratoire de Venaxis par 3 opérateurs, chacun disposant d'un lecteur dédié, aveugle aux résultats des autres opérateurs. Une combinaison opérateur + lecteur a été désignée comme « site » distinct pour un total de 3 sites. Chaque opérateur a testé 5 échantillons de plasma plus 2 témoins pendant 3 jours, 2 passages par jour, 2 répétitions par passage. Au cours de chaque test, l'ordre des échantillons fut modifié. Afin de calculer le score du test *APPY*1, un décompte fixe de globules blancs a été assigné à chaque échantillon. Pour les scores de test *APPY*1, le % CV au cours des passages (répétabilité) était ≤ 3,4%, le % CV entre les passages était de ≤ 0,9%, le % CV d'un jour à l'autre était ≤ 0,7% et le % CV d'un opérateur/site à l'autre était ≤ 0,5%. L'imprécision totale (reproductibilité) était ≤ 3,4%. Les résultats des scores de test *APPY*1, MRP 8/14 et CRP sont fournis ci-dessous :

Reproductibilité du test : Score du test *APPY*1 avec décompte fixe de globules blancs

Paramètres		Échantillon				
		1	2	3	4	5
Score du test *APPY*1						
Moyenne		3,2	3,9	4,0	4,2	5,4
Répétabilité (au cours d'un passage)	Écart type	0,014	0,019	0,048	0,049	0,168
	CV %	0,4	0,5	1,2	1,2	3,1
Entre les passages	Écart type	0,004	0,010	0,019	0,017	0,049
	CV %	0,1	0,3	0,5	0,4	0,9
D'un jour à l'autre	Écart type	0,005	0,014	0,010	0,012	0,036
	CV %	0,1	0,4	0,2	0,3	0,7
D'un opérateur à l'autre	Écart type	0,003	0,005	0,011	0,010	0,030
	CV %	0,1	0,1	0,3	0,3	0,5
Reproductibilité (totale)	Écart type	0,015	0,026	0,054	0,054	0,182
	CV %	0,5	0,7	1,3	1,3	3,4

Reproductibilité du test : Concentration de MRP 8/14

Paramètres		Échantillon				
		1	2	3	4	5
MRP 8/14 µg/ml						
Moyenne		0,10	0,15	0,25	0,34	0,59
Répétabilité (au cours d'un passage)	Écart type	0,003	0,010	0,029	0,026	0,656
	CV %	2,9	6,6	11,5	7,7	11,1
Entre les passages	Écart type	0,002	0,005	0,009	0,008	0,013
	CV %	1,9	3,1	3,5	2,3	2,3
D'un jour à l'autre	Écart type	0,003	0,007	0,006	0,007	0,017
	CV %	2,6	4,7	2,4	2,0	3,0
D'un opérateur à l'autre	Écart type	0,010	0,002	0,006	0,006	0,015
	CV %	9,6	1,6	2,5	1,7	2,5
Reproductibilité (totale)	Écart type	0,009	0,013	0,031	0,029	0,071
	CV %	8,6	8,8	12,6	8,4	12,0

Reproductibilité du test : Concentration de CRP

Paramètres		Échantillon				
		1	2	3	4	5
CRP µg/ml						
Moyenne		0,63	2,52	5,55	5,94	24,34
Répétabilité (au cours d'un passage)	Écart type	0,039	0,166	0,309	0,568	3,375
	CV %	6,1	6,6	5,6	9,6	13,9
Entre les passages	Écart type	0,016	0,13	0,281	0,228	1,226
	CV %	2,5	5,2	5,1	3,8	5,0
D'un jour à l'autre	Écart type	0,012	0,116	0,065	0,132	0,743
	CV %	1,9	4,6	1,2	2,2	3,1
D'un opérateur à l'autre	Écart type	0,009	0,048	0,099	0,121	0,902
	CV %	1,4	1,9	1,8	2,0	3,7
Reproductibilité (totale)	Écart type	0,044	0,245	0,434	0,638	3,776
	CV %	7,0	9,7	7,8	10,7	15,5

Interférence

Les échantillons de plasma rassemblés contenant des concentrations basses, moyennes et élevées de MRP 8/14 et CRP ont été évaluées en termes d'interférence à l'hémoglobine bilirubine (conjuguée et non conjuguée), la lécithine, les anticorps humains anti-souris (HAMA), le facteur rhumatoïde (RF) et l'immunoglobuline G (IgG). Les valeurs de contrôle pour chaque regroupement de plasma (L, M, H) ont été déterminées par la moyenne de 3 mesures répétées. Les effets de chaque substance interférente ont été évalués par la moyenne de 3 mesures répétées de chaque regroupement de plasma. Une valeur de décompte de globule blanc a été attribuée à chaque regroupement de plasma afin de calculer le score du test *APPY*1. Une valeur de décompte de globules blancs de 4 fut assignée au regroupement à faible teneur en plasma, une valeur de 7 pour la teneur moyenne et une valeur de 10 pour la teneur importante. Aucune différence importante n'a été observée au cours du test *APPY*1 pour l'un des interférents, toutes les différences furent inférieures à 10%. Cependant, une interférence potentielle a été détectée à de faibles niveaux de MRP 8/14 avec la bilirubine non-conjuguée à ces niveaux de test. Comme cela est démontré dans le graphique ci-dessous, cette interférence a très peu d'incidence sur le score du test *APPY*1. En outre, une interférence a été détectée à de faibles niveaux de CRP lors de la comparaison du plasma RF positif avec son témoin. Cependant, de faibles niveaux de CRP ont été détectés dans cet échantillon par immunoblot, indépendamment des groupes de test. Si une source de RF plus propre est testée, le % de différence illustré ci-dessous sera réduit. Un résultat similaire fut obtenu avec tous les niveaux de MRP 8/14 lors du test de l'interférent. Il fut démontré que l'IgG purifiée est contaminée de MRP 8/14 et que si une source plus propre est obtenue, les effets d'interférence illustrée ci-dessous seraient également réduits.

Test d'interférence : *APPY*1Test

Interférent potentiel	**Concentration**	**Groupe faible *APPY*1 Test Score = 3,1**	**Groupe moyen *APPY*1 Test Score = 3,6**	**Groupe élevé *APPY*1 Test Score = 4,6**
		% de différence par rapport à l'échantillon de contrôle ou au NSD		
Hémoglobine	2 g/l	0,69	-0,79	-0,08
Bilirubine, non-conjuguée	342 µmol/l	1,37	0,56	1,78
Bilirubine, conjuguée	342 µmol/l	-0,28	-1,52	-1,80
Lécithine	11,1 mmol/l	0,38	-0,09	0,17
HAMA	153.3 ng/ml	0,24	-0,93	-2,18
Facteur rhumatoïde	60 UI/ml	0,06	0,42	-1,99
IgG	52,8 mg/ml	5,55	7,06	4,30

REFERENCES

1. EU Market Study by Venaxis, Inc. (Benelux, France, Italy, Germany, UK), 2012.
2. Venaxis analysis of data from: National Hospital Ambulatory Medical Care Survey, 2010. Available at: http://www.cdc.gov/nchs/ahcd/ahcd_questionnaires.htm#public_use. Accessed November 2012.
3. Addiss D, et al. The Epidemiology of Appendicitis and Appendectomy in the United States. American Journal of Epidemiology. 1990;132:910-25.
4. Becker, et al. Atypical Clinical Features of Pediatric Appendicitis. Academic Emergency Medicine. 2007;14:124-129.
5. Brennan G. Pediatric Appendicitis: Pathophysiology and appropriate use of diagnostic imaging. Canadian Journal of Emergency Medicine. 2006;8:425-432.
6. Kharbanda, et al. A Clinical Decision Rule to Identify Children at Low Risk for Appendicitis. Pediatrics. 2005;116:709-716.
7. Huckins DS, et al. A novel biomarker panel to rule out acute appendicitis in pediatric patients with abdominal pain, American Journal of Emergency Medicine. (in press), http://dx.doi.org/10.1016/j.ajem.2013.06.016.
8. Cardall, et al. Clinical Value of the Total White Blood Cell Count and Temperature in the Evaluation of Patients with Suspected Appendicitis. Academic Emergency Medicine. 2004;11:1021-1027.
9. Hennelly K and Bachur R. Appendicitis Update. Current Opinion Pediatrics. 2011;23:1-5.
10. Wan M, et al. Acute Appendicitis in Young Children: Cost Effectiveness of US versus CT in Diagnosis – A Markov Decision Analytical Model. Radiology. 2009;250:378-386.
11. Glatter R. What role do imaging studies play in diagnosing pediatric appendicitis in the ED? MedScape Emergency Medicine, Web MD. June 18, 2010. Available at: http://www.medscape.com/viewarticle/723549. Accessed April 9, 2012.
12. Stoker J, et al. Imaging patients with acute abdominal pain. Radiology. 2009;253:31-46.
13. Bachur R, et al. Advanced Radiologic Imaging for Pediatric Appendicitis: 2005-2009 Trends and Outcomes. Journal of Pediatrics. 2011.
14. Menoch M, et al. Trends in Computed Tomography Utilization in the Pediatric Emergency Department. Pediatrics. 2012:129:e690-e697.
15. Bealer J and Colgin M. S100A8/A9: A potential New diagnostic Aid for Acute Appendicitis. Academic Emergency Medicine. 2010:17:333-336.
16. Mills A, et al. Diagnostic Characteristics of S100A8/A9 in a Multicenter Study with Patients With Acute Right Lower Quadrant Abdominal Pain. Academic Emergency Medicine. 2012;19:48-55.
17. Kharbanda A, et al. Novel Serum and Urine Markers for Pediatric Appendicitis. Academic Emergency Medicine. 2012;19:56-62.
18. Thuijl G, et al. A Pilot study on potential new plasma markers for diagnosis of acute appendicitis. 2010.
19. Shindoh J, et al. Diagnostic Power of Inflammatory Markers in Predicting Severity of Appendicitis. Hepato-Gastroenterology. 2011;58:2003-2006.
20. Cole M, Maldonado N. Evidence-Based Management of Suspected Appendicitis in the Emergency Department. Emergency Medicine Practice. 2011;13:1-32.
21. Siddique K, et al. Diagnostic accuracy of white cell count and C-reactive protein for assessing the severity of paediatric appendicitis. Journal of the Royal Society of Medicine. 2011;2:59.
22. Doraiswamy NW. Progress of acute appendicitis: a study in children. British Journal of Surgery 1978;65:877-9.

Symbol Key: Symbolschlüssel: Leyenda de los símbolos: Légende des symboles: Descrizione dei simboli: Verklaring van symbolen:

Symbol Symbol Símbolo Symbole Simbolo Symbool	EN DE ES FR IT NL	Used for Verwendet für Significa Utilisé pour Spiegazione Gebruikt voor	CE	CE Mark CE-Zeichen Marca CE Marque CE Marcatura CE CE-markering	CONT	Contents Inhalt Contenido Contenu Contenuto Inhoud

Venaxis, Inc.
1585 South Perry Street
Castle Rock, CO 80104 USA

www.venaxis.com
Tel: +1-303-794-2000
Fax: +1-303-798-8332

EC REP

Emergo Europe
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague,
The Netherlands

The *APPY*1 Test Kit is for U.S. Export Only.

Venaxis, *APPY*1 and *APPY*Reader are trademarks of Venaxis, Inc.